FICHE TECHNIQUE 19 :
De l'utilité / importance de la dilution

pour une évaluation correcte des performances de contrôle de qualité externe

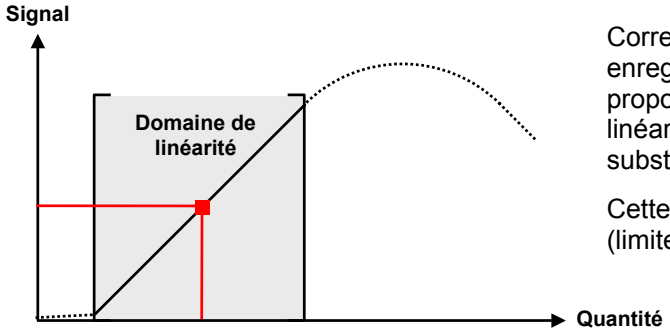
À la fin de la lecture de ce document vous devez être capable de :

- Trouver les limites de linéarité de vos appareils, pour chaque analyse
- Savoir que le même échantillon dilué ou non dilué peut être évalué de manière différente pour le CQE
- Identifier les cas où l'échantillon doit être dilué
- Maîtriser ces limites de linéarité

1. Qu'est-ce qu'une limite de linéarité ?

Valeurs au-dessus ou au-dessous de laquelle l'appareil n'est plus en mesure de donner un résultat valide.

- À quoi cela correspond-il ?



Correspond à la zone de mesure où le signal enregistré par l'appareil est directement proportionnel ("ligne droite" ou domaine de linéarité) à la quantité ou à la concentration de substance mesurée.

Cette zone est définie par une valeur inférieure (limite de détection) et une valeur supérieure.

2. Où trouver ces limites de linéarité ?

Chaque trousse de réactifs a ses valeurs indiquées sur le mode d'emploi.

3. Limites pour l'analyse :

- Valeur inférieure : Chaque méthode possède une limite de détection et une limite de quantification, connues et établies par le fabricant. Cette limite correspond à la plus petite quantité qui peut être détectée (ou quantifiée avec certitude) par la trousse. Si le résultat est inférieur à la limite de détection, on rendra alors "non détecté". Un résultat de 0,0 n'est pas réaliste analytiquement.
- Valeur supérieure : Cette valeur est également indiquée dans la trousse de réactifs. Elle est déterminée suite à la répétition de nombreux tests et correspond à la quantité ou concentration supérieure de la limite de linéarité.

4. Le résultat de l'analyse est en dehors des limites de linéarité :

- Si au-dessus ou ">" :
  - ⇒ La valeur donnée par l'appareil n'est pas la valeur "vraie" de l'analyse, elle est biaisée, et le résultat n'est pas fiable (souvent sous estimé).
  - ⇒ Il est alors nécessaire de prendre un aliquote et de procéder à une dilution. Ceci se fait à l'aide du matériel adéquat (pipettes calibrées) et de la solution appropriée (sérum physiologique, eau distillée,…). Le type de solution à utiliser pour effectuer la dilution est indiqué dans le mode d'emploi.
  - ⇒ Il faut soigneusement noter les volumes utilisés pour les dilutions afin de calculer le résultat qui reflète la concentration du tube primaire (à l'aide d'une règle de 3 : la dilution est le volume d'échantillon utilisé / volume total). Le tableau ci-dessous vous donne quelques exemples de dilutions courantes et comment retrouver la concentration de l'échantillon :

Volume d'échantillon utilisé (ml)	**1**	**1**	**1**	**1**	**3**
Volume de solution de dilution utilisé (ml)	1	2	3	7	2
Volume total (ml)	**2**	**3**	**4**	**8**	**5**
Dilution au	**1/2**	**1/3**	**1/4**	**1/8**	**3/5**
Concentration initiale de l'échantillon (multiplier le résultat par)	x 2	x 3	x 4	x 8	x 5/3

- Si l'échantillon est déjà dilué :
  ⇒ Le résultat n'est toujours pas fiable. Il est nécessaire de procéder à une nouvelle dilution jusqu'à ce que le résultat soit contenu dans la zone de linéarité.

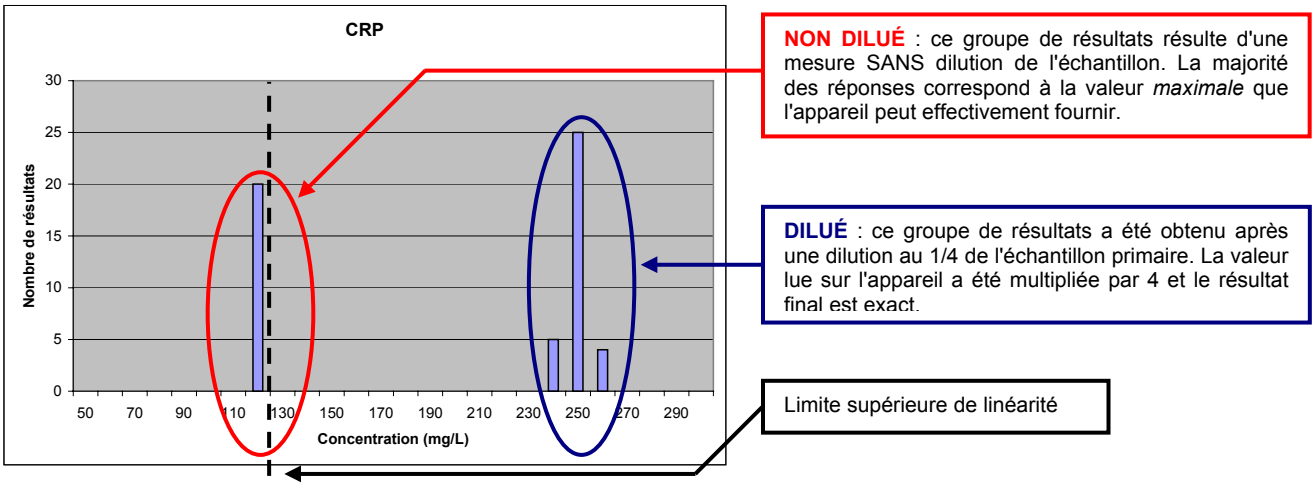
- Si au-dessous ou "<" :
  ⇒ Indiquer comme résultat "non détecté" qui est un résultat valable.
  ⇒ En cas de doute, s'interroger sur les erreurs possibles au cours des différentes phases (préanalytique, analytique et postanalytique)

  - Si l'échantillon est déjà dilué :
    ⇒ Ne pas valider le résultat et recommencer l'analyse sans dilution.

5. Exemple d'une dilution "réussie"

La CRP (C-Reactive Protein) est une protéine marqueur des processus d'inflammation. Sa concentration varie énormément en fonction de l'état du patient (<5 mg/l en absence d'inflammation), elle peut atteindre des valeurs très élevées (> 200 mg/l).

Lors d'un contrôle de qualité externe, un même échantillon est envoyé à plusieurs laboratoires qui mesurent la concentration de CRP avec le même appareil. Voici un graphique des résultats obtenus au CSCQ :



On observe donc que le groupe qui n'a pas dilué l'échantillon ne rend pas un résultat exact (sauf si le signe ">" est indiqué avant le résultat) et peut obtenir une évaluation "non conforme" en cas de contrôle de qualité externe.

6. Comment identifier les cas où l'échantillon doit être dilué ?

- Si l'appareil donne un résultat supérieur à la limite de linéarité et si le fabricant le recommande
- Si le fabricant annonce clairement des tableaux ou des instructions de dilution
- ATTENTION AU LIQUIDE DE DILUTION. Il faut se conformer aux indications de la trousse (H_2O distillée, solution saline, solution fournie dans la trousse, etc.)

7. Comment s'organiser pour maîtriser ces limites de linéarité ?

- Tenir à jour tous les prospectus d'analyses
- Rechercher les limites indiquées par le fabricant
- Pour chaque appareil, établir un tableau de type :

Analyse	Appareil	Limites de linéarité		Unité	Dilution recommandée
Cholesterol HDL	Vitros	0,03	2,84	mmol/l	Si dépassement de la limite supérieure, diluer au 1/2 avec la solution VITROS HDLC
CRP	Fuji DriChem	3	70	mg/l	Si dépassement de la limite supérieure : diluer au 1/3 avec la solution fournie

- Afficher ce tableau à côté de l'appareil concerné
- Vérifier chaque résultat d'analyse par rapport aux limites de linéarité
- Effectuer une dilution si requis.

Mars 2008 Mathias Maitrejean, Sylvie Vasey et André Deom
© CSCQ 2007. Aucune copie de ce document n'est autorisée sans l'accord du CSCQ.
CSCQ, 2 chemin du Petit-Bel-Air, CH - 1225 Chêne-Bourg